生体高分子用イオン交換カラム

TSKgel BioAssist

取扱説明書

安全上のご注意

- ご使用の前に，この「安全上のご注意」をよくお読みのうえ，正しくお使いください。
- この項目は，いずれも安全に関する内容ですので，必ず守ってください。
- 「警告」「注意」の意味は次のようになっています。

⚠警告	取扱を誤った場合，使用者が死亡または重傷を負う可能性が想定されるもの。
⚠注意	取扱を誤った場合，使用者が傷害を負う可能性が想定されるものまたは物的損害の発生が想定されるもの。

ご使用時

● 火気厳禁

- 引火性のある溶媒を使用する場合，火気の使用は厳禁です。火災，爆発の原因になります。

⚠注意

● 換気に注意を

- 引火性，毒性のある溶媒を使用する場合，充分換気をしないと火災，爆発，中毒の原因になります。

● 液漏れに注意を

- 溶媒等の液漏れは，感電，中毒，薬傷，火災，腐食などの原因になります。液漏れの場合は，適切な保護具を付けた上で，液を取り除いてください。

⚠ 注意

●保護具の着用を

● 有機溶媒や酸などの溶離液を取扱う場合は，保護メガネ，手袋などの保護具をご使用ください。薬傷を負う恐れがあります。

●取扱いに注意を

● 取扱いが不適切であると，カラムの性能を損なうことがあります。取扱いには充分注意してください。

●適切な使用方法を

● 本カラムは分離，精製等に用いるもので，それ以外の目的には使用しないでください。

●圧力に注意を

● 急激な圧力上昇は，カラムの性能を損なう原因になります。又，カラム材質により破裂，飛散等の可能性があります。規定以上の圧力にならぬように注意下さい。適切な保護具を付けた上で，充分注意して作業を行ってください。

●分離精製物の取扱いに注意を

● 得られた分離精製物または精製溶液を製品及び中間体として使用する場合は，充分にその安全性の確認を行ってご使用ください。

●処分には適切な処理を

● 廃棄する場合は，産業廃棄物として適切な処理を行ってください。

【その他の注意】

● 本書は大切に保存してください．また，ご利用者が代わる場合には次のご利用者にお渡しください．

取扱上のご注意（出荷溶媒に関する注意）

応急措置	眼に入った場合	¡流水で15分以上洗眼する。その際は瞼を開き水が全面にゆきわたるように行う。 ¡医師の手当を受ける。
	皮膚に付着した場合	¡ 水等で洗い流す。
	吸入した場合	¡ 空気の新鮮な場所に移動しうがいを行い医師の手当を受ける。
	飲み込んだ場合	¡ 口腔を水洗し，医師の手当を受ける。
取扱い及び保管上の注意	換気	¡許容濃度以下に保つような設備で換気する。
	身入れ容器の取扱い	¡容器は破損につながる粗暴な取扱いをしない。
	身体の洗浄	¡取扱い後は顔、手、口等を水洗する。
	取扱い時の保護具	¡ 取扱いの際は耐油性ゴム手袋、保護メガネ及び有機ガス用、保護マスク、保護衣、長靴を着用する。
	危険有害物等の保管	¡火気、加熱に注意して保管する。
廃棄上の注意	処分方法	¡廃棄は焼却処分による。
	一般的な留意事項等	¡ 処分作業は取扱い及び保管上の注意事項に留意して行う。
	処分上の注意	¡ 焼却処分する場合はハロゲン化合物、窒素酸化物ガスを発生するので排ガス対策を行う。 （TSKgel BioAssist Q）

□出荷溶媒：

・20％エタノール／トリス緩衝液（品名：TSKgel BioAssist Q）

・20％エタノール／リン酸緩衝液（品名：TSKgel BioAssist S）

取扱上のご注意（充填剤に関する注意）

応急措置	眼に入った場合	¡流水で15分以上洗眼する。その際は瞼を開き水が全面にゆきわたるように行う。 ¡医師の手当を受ける。
	皮膚に付着した場合	¡ 水等で洗い流す。
	吸入した場合	¡ 空気の新鮮な場所に移動しうがいを行う。
	飲み込んだ場合	¡ 口腔を水洗し、医師の手当を受ける。
取扱い及び保管上の注意	火気等の注意	¡ 火気の使用を禁じ火花の発生を防止するための防爆工具の使用及び接地等を行う。
	換気	¡ 換気設備などで換気する。
	取り扱い時の保護具	¡ 取扱いの際は保護メガネ及び防じんマスクを着用する。
廃棄上の注意	処分方法	¡ 廃棄する場合は焼却設備等で少量ずつ焼却処分を行う。
	一般的な留意事項等	¡ 処分作業は可燃物の取扱い及び保管上の注意事項に留意して行う。
	処分上の注意	¡ 焼却処分する場合TSKgel BioAssist Qは窒素酸化物ガス、TSKgel BioAssist Sは硫黄化合物ガスを発生するので排ガス対策を行う。

□充填剤；

・可燃性アニオン交換樹脂（品名：TSKgel BioAssist Q）

・可燃性カチオン交換樹脂（品名：TSKgel BioAssist S）

目　次

2001年5月作成

1. はじめに

本TSKgel BioAssistシリーズは高速イオン交換クロマトグラフ用に開発された充填カラムです．すなわち，高速イオン交換クロマトグラフィに適するようにデザインされていますので，塩濃度を自由に変えることができる（機械的強度を持つ）と共に，粒子径が小さいため高分離能をしめすことが大きな特長です．

この高性能カラムの性能を十分に発揮させ，効果的にご使用いただくためには，ご使用の前にこの取扱説明書を必ずお読みの上，正しくご使用いただきますようお願いいたします．

2. ご使用の前に

まず梱包状態及びカラムの外観に異常がないかご確認ください．つぎに，添付書が入っていますのでご確認ください．

・取扱説明書　1部
・検査票（INSPECTION DATA）　1部

3. カラムの種類と性質および用途

本TSKgel BioAssistシリーズは，**表1**に示すように2種類の分析カラムが用意されています．

表1　分析カラム

カラム名称	TSKgel BioAssist Q	TSKgel BioAssist S
品番	19685	19686
カラムサイズ（材質）	4.6mm（内径）×5cm（長さ）（PEEK＊1）	4.6mm（内径）×5cm（長さ）（PEEK＊1）
基材	多孔質アクリレート系ゲル	多孔質アクリレート系ゲル
粒子径	10μm	7μm
官能基	ポリアミン	スルフォプロピル基
イオン交換容量	約0.1eq/L	約0.1eq/L
対イオン	Cl	Na
出荷時溶媒	20%EtOH in This-HCl Buffer（pH8.0）	20%EtOH in Phosphate Buffer（pH6.5）

＊1：PEEK…ポリエーテルエーテルケトン

4. カラムの構成

カラムの構成を**図1**に示します.
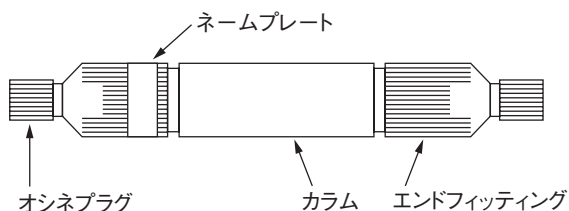
図1 カラム構造図

5. 装置へのセットと注意

5-1 カラム部品の接続方式

BioAssistシリーズはPEEKカラムなので，オシネプラグ，フェラルなどは樹脂製のものをご使用ください．金属製の配管部品をご使用になられますとカラムを傷める可能性があります.

5-2 カラムの通液方向

通液方向は，カラム再生など特別な場合を除き，ネームプレートに記載されています．Flow矢印の方向に通液してください.

5-3 気泡の混入防止

カラムを装置にセットする際，また取り外す際に，カラム内に空気を入れないように十分注意を払ってください．カラムを装置にセットする場合は，必ず装置の全配管系の気泡を除いた後行なってください．カラム内に気泡を入れますとチャンネリング等により性能が低下します.

5-4 カラム接続

5-4-1 エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てくる場合

カラムは装置の全配管系の気泡を除いたことを確認して接続しますが，カラムの入口側のオシネをはずしたとき，エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てくれば，先に述べましたように気泡をカラムに入れないように注意しながら装置にカラムを接続してください.

5-4-2 エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てこない場合

カラム入口側のエンドフィッティングより溶媒がにじみ出てこない場合には，カラム出口側エンドフィッティングと装置とを接続し送液ポンプにより溶媒を送り，逆流しによって入口側エンドフィッティング付近の気泡を溶媒で押し出してください（この際，急激な加圧，あるいは送液は，カラムの性能が低下しますので，各カラム適正流速の1/2以下の流速で通液してください）.

5-4-3 気泡が出ないことを確認したら

カラム入口側エンドフィッティングより気泡が出ないこと，および溶媒がにじみ出ることを確かめた後，カラムを正常な通液方向にして，入口側エンドフィッティングと装置を接続してください.

5-4-4 装置への接続と注意点

カラムと装置の接続は1/16インチPEEK又はテフロンパイプを用いますが，デッドボリュームを小さくするために配管の長さは短かくして，さらに，内径0.4mm以下のものを使用してください．配管は，エンドフィッティングにいっぱいに差し込んだ状態でフェラルを固定してください．配管とエンドフィッティングとの間に隙間があると，溶媒の流れが乱れ，分離能が低下します.

5-5 測定開始前

カラムのセット終了後，測定を開始しますが，その際，先に述べましたように急激な加圧，送液はカラム性能が低下しますので避けてください．特に急激な圧力の立ち上がりを示す送液ポンプは使用しないでください.

5-6 脈動対策

一般にカラムは，ポンプの脈動が大きいとカラムが劣化し易いので，十分に注意してください．送液ポンプは，脈動のないものを選んでください.

5-7 HPLCシステム

グラジエント溶出を行う場合，デッドボリュームが小さく，高精度で再現性の高い高圧（吐出）グラジエント方式をおすすめします.

5-8 測定終了後

5-8-1 測定温度が室温より高い場合

測定終了後すぐにポンプを止めないで，カラムの温度が室温に下がるまで送液を続けてください．温度が高い状態でポンプを止めると，溶媒の収縮によりカラム内に気泡が発生することがあります.

5-8-2 短期保存の場合（3日～1週間以内）

塩濃度グラジエント分析をした場合は，カラムに低塩濃度側の溶離液で送液置換後，カラムを装置から取り外し，両端に栓をしてください．そして全配管系を蒸留水またはイオン交換水で洗浄してください．

5-8-3 長期保存の場合（1週間以上）

カラムを装置に取り付けたまま，全配管系を蒸留水又はイオン交換水を用いて，0.5ml/min以下の流速で置換してください．その後，検査票のPACKED SOLVENTに記載されている溶媒を用いて0.5ml/min以下の流速で置換し，カラムを装置から取り外し，両端に栓をして保存してください．

6. カラムの保存方法

6-1 保存方法

カラムは直射日光及び腐食性ガスを避けて，室温にて，温度差の小さい場所に保存してください．カラムを0℃以下の場所に放置した場合には，凍結の可能性がありカラム劣化の原因となりますので，絶対に避けてください．

7. 溶媒の選択

7-1 使用溶媒へ置換

カラムは検査票のPACKED SOLVENTに記載されたエタノールを含む溶媒で出荷されています．以下の手順で使用溶媒に置換してください．

(1) 0.5ml/min以下の流速で蒸留水（イオン交換水）または初期溶離液（低塩濃度）をカラム容量の5倍（約4mL）程度通液してください．

(2) 最終溶離液（高塩濃度）をカラム容量の10倍（約8mL）程度通液し対イオンを交換する．

(3) カラム容量の5倍（約4mL）程度の初期溶離液でベースラインが安定するまでカラムを平衡化する．

BioAssistカラムはポリマー系ゲルであるため，水溶性有機溶媒による膨潤収縮があります．有機溶媒を含む溶媒への頻繁な置換はカラム性能が低下します．同一の溶媒をご使用ください．

7-2 使用可能なpH範囲

下記範囲内のpHでご使用ください．

長期間使用の場合　　　　　　：pH3～10

短期間使用の場合（約1ヶ月）：pH2～12

なおカラム洗浄のために0.5mol/L NaOHをインジェクターより連続注入することは可能です．

7-3 溶媒（溶離液）選択の注意事項

7-3-1 溶離液の選択

BioAssist Qの場合，アニオン性の緩衝液または界面活性剤を溶離液として使用するのは避けて下さい．（塩，界面活性剤がゲルに吸着するのを防ぐため）

BioAssist Sの場合，カチオン性の緩衝液または界面活性剤を溶離液として使用するのは避けて下さい．（塩，界面活性剤がゲルに吸着するのを防ぐため）

また，クエン酸緩衝液，りん酸緩衝液などを溶離液として使用する場合，菌が発生し易いので注意が必要です．

7-3-2 検出器との関係

試料と移動相の特性の差により定量をおこなうので，UVの吸収の差，屈折率の差に注意してください．RI検出器を使用する場合は，試料と屈折率の差の大きいもの，UV検出器を使用する場合は，測定波長において吸収の弱い溶媒を選択してください．

7-3-3 溶媒の粘度

粘度の高い溶媒を用いるときは，圧力損失が大きくなり，配管，ポンプ，カラムの劣化原因となりますので，ご注意ください．

7-3-4 溶媒の沸点

室温（25℃）以上でご使用のときは，溶媒の沸点にご注意ください．

7-3-5 溶媒中の不純物

ベースラインの乱れの原因となりますので，溶媒はできるだけ純度の高い試薬をご使用ください．

7-3-6 試料の溶解

試料が完全に溶解する溶媒を選択してください．試料が完全に溶媒に溶解しない場合，カラムのつまり，充塡剤の科学的劣化の原因となります．

7-3-7 有機溶媒の添加

水溶性有機溶媒の添加が可能です．添加量は，30％以下としてください．（緩

衝液への水溶性有機溶媒の添加においては，緩衝液中の塩が析出しないことを確認してください）

7-3-8 溶媒中の不純物

溶離液に使用した水や試薬中の不純物はゴーストピークの原因となるばかりではなく，カラムを汚染し，劣化をはやめます．したがって，水は超純水，HPLC用蒸留水，注射用蒸留水などを，有機溶媒はHPLCグレードを使用し，試薬類はHPLCグレードまたは特級品を使用してください．また，溶離液はフィルタ（0.22 μmまたは0.45 μm）でろ過したものを使用してください．調製後3日以上経過した溶離液の使用はさけてください．

7-3-9 ラインフィルタ

溶離液に含まれる微粒子や不純物がカラム内へ進入することを防ぐため，インジェクションバルブと送液ポンプの間にハンディフィルタPEEK（品番18014）を取り付けてください．

7-4 脱気操作

溶媒の置換時（とくに有機溶媒添加系への置換時）および測定時に溶媒から気泡を発生し，カラム内へ気泡が混入することがあります．この気泡の発生を防ぐために，溶離液は充分に脱気をおこなってください．

8. 使用流速

8-1 適正流速

下記に示す適正流速で使用してください．最大流速以上，最大圧力以上でのご使用は絶対に避けてください．

	適正流速	最大流速	最大圧力
BioAssist Q	1.0ml/min	1.2ml/min	2.5MPa
BioAssist S	0.5ml/min	1.0ml/min	2.5MPa

8-3 溶媒の粘度

使用溶媒の粘度が低ければ，流速を高めにすることができます．逆に，溶媒の粘度が高ければ，流速を低めに設定してください．

9. 使用温度

9-1 使用温度範囲

4℃～60℃の範囲でご使用ください．

9-2 加温状態で測定される場合

溶媒はよく脱気してご使用ください．加温状態での測定が終了したらカラム保護のため，5-8-1項の注意を必ず守ってください．

9-3 加温状態での測定の利点

主として次のような利点があります．

(1) 溶媒および試料の粘度が高いとき，加温により粘度を下げることができる．

(2) 室温使用のときより，理論段数が向上し分離能が高まる．

9-4 室温以下の低温で測定する場合

9-3項で述べた加温状態での利点と反対の欠点が生じます．また，溶媒および試料の粘度が高まるため，流速を室温の場合よりも低くすることが必要です．

10. 試料溶液の調製

10-1 試料調製

溶離液を用いて調製してください．

10-2 試料溶液中に不溶分，ゲル分がある場合

遠心分離やマイクロポアフィルタ（0.5 μmなど）によるろ過精製を必ずおこなってください．肉眼では見ることはできなくとも，不溶分が存在する可能性があります．

10-3 試料溶液の組成

試料液の塩濃度，pH，有機溶媒の添加量を溶離液にあわせてください．

グラジエント溶出をおこなう場合は，初期溶離液にあわせてください．塩濃度の高い試料は，脱塩して注入してください．

また，溶離液と混合することによって，不溶性物質を生成するような試料は，注入できませんので注意してください．

11．理論段数，非対称係数の測定

カラムの理論段数，非対称係数および測定条件は，検査票（INSPECTIONDATA）記載の通りです．

11-1 理論段数計算法
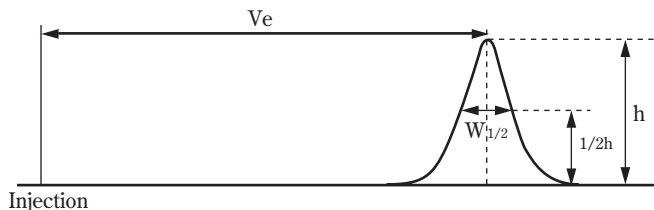
図２　TSK-GEL 理論段数計算法

カラムの理論段数は，半値幅法により計算をおこなっており，カラム当りの段数で表示してあります．

$N=5.54(Ve/W1/2)^2$

Ve	：	溶出時間	(min)
W1/2	：	ピーク半値幅	(min)
h	：	ピーク高さ	
N	：	カラム当りの理論段数	

11-2 非対称係数計算法
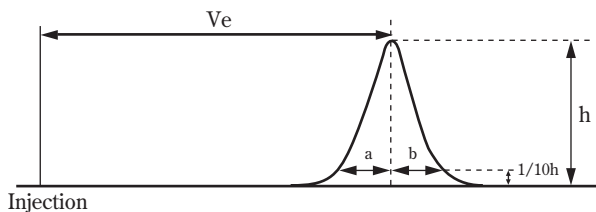
図３　TSK-GEL 非対称係数計算法

カラムの非対称係数は，1/10h法により計算をおこなっています．

As＝b/a

As　：　非対称係数

なお，カラム検定は，（デッドボリュームを小さくした）当社HLC装置で測定しています．

デッドボリュームの大きい装置を使用した場合，あるいは注入量を多くした場合は，規格値よりも低い理論段数を示すことがありますので，注意してください．

12. ガードカラム

BioAssistシリーズには専用のガードカラムはありません．試料中の吸着性物質から本カラムを保護する目的には，ハンディフィルタPEEK（品番18014）の使用が効果的です．

13. トラブル発生時の処置法

13-1 カラムエンドフィッティングトラブル

試料の注入後急激に流量が低下した場合，同一流量でカラム購入時より大きく圧損が増大した場合，13-1-1～13-1-3 項の処置、確認をおこなってください．

13-1-1 つまり物の押し出しまたはエンドフィッティングの交換

カラムを装置より取りはずし，出口側エンドフィッティングをポンプ側配管に接続し通常の流速で送液して，入口側エンドフィッティングにつまったものをカラム外に押し出してください．出口側エンドフィッティングがつまった場合には逆の操作をおこなってください．これでもつまったものが取れない場合，あるいはエンドフィッティングが破損した場合は，13-1-2 項の手順にしたがってエンドフィッティングの交換をおこなってください．

13-1-2 エンドフィッティングの交換

新しいエンドフィッティングを用意し，つまったエンドフィッティングをカラムより取りはずします．この際，ゲルが外部に漏れないよう細心の注意を払ってください．取りはずしたエンドフィッティングに残っているゲルを，新しいエンドフィッティングに移しカラムに取りつけます．

13-1-3 エンドフィッティングの交換後

交換が終わりましたら，5-4-2 項を参考にして，新しいエンドフィッティング側

の気泡を取り除いた後，理論段数を測定し，段数の低下が起こってないか確認してください．

13−2 分離能が急激に低下した場合

カラム系の理論段数を測定してください．段数が正常であれば試料に原因があると思われますので，新しい試料を作り直してください．もし理論段数も異常であれば，カラムの性能低下と考えられますので，以下の処置をおこなってください．

カラム系の分離能が急激に低下する原因としては，13−2−1〜13−2−3項が考えられます．

13−2−1 エンドフィッティングにゴミ等がつまり，流路に乱れを生じる場合

13−1 項を参考にして，エンドフィッティングの洗浄または交換後，理論段数を測定してください．

13−2−2 カラム入口側のすき間

急激な加圧，最高流速以上の流速がかかった場合，5−6 項の脈動対策に関して考慮しなかった場合，あるいは交換可能以外の溶媒を流した場合には，カラムの入口側にすき間が生じる場合があります．

この場合，理論段数が極端に低下し（購入時段数の30％以下），かつピークが２つに割れたりしますので，入口側エンドフィッティングを取り外してください．すき間が空いていましたら，当社営業までご相談ください．

13−3 使用中に試料が吸着して溶出しないか，または溶出がいちじるしく遅れる場合

長時間繰り返して測定しているうちに，溶出挙動がいちじるしく変化する場合がありますが，このような現象は，試料中の微量吸着成分が充填剤表面に蓄積し表面状態が変化したために起こるものと考えられます．このような場合，性質の異なる溶媒で洗浄することにより分離能が回復することがあります．

下記に吸着の代表例を示します．

カラムの洗浄方法

カラム内を初期溶離液に置換した後，サンプルループを5mlのループに交換するか，またはお手持ちのインジェクションバルブで注入量が5mlになるまで連続して，下記の溶液を注入してください．

（1）0.5mol/L NaOH水溶液

（2）20〜40％酢酸水溶液

（3）水溶液有機溶媒を添加した溶離液（有機溶媒濃度は30％以下としてください）

（4）尿素，中性界面活性剤を添加した溶離液
これらの方法を(1)より順番におこない，各段階で試料の溶出時間およびピーク形状が回復しているか確認してください.

14. 品質規格および保証

14-1 検査票（INSPECTION DATA）

検定条件，検定結果は検査票記載のとおりです．このなかで，理論段数はカラム当りの理論段数で，圧力は検定流速での圧力を表示してあります.

検出溶離液
BioAssist Q：20vol％EtOH in 20mmol/L Tris-HCl buffer（pH8.0）
BioAssist S：20vol％EtOH in 20mmol/L Sodium Phospate buffer（pH6.5）

13-2 品質規格

以下の規格で出荷されております.
BioAssist Q： 500TP/Column, As（非対称係数）：0.9～1.8
BioAssist S：1500TP/Column, As（非対称係数）：0.9～1.8

14-3 保　証

q 現品到着後，検査票並びにこの取扱説明書に記載の条件で，カラムの理論段数および非対称係数をチェックしてください．当社の責任で規格値を外れている場合には良品と交換いたします.
w 輸送中の事故などで，カラムに破損が認められる場合には良品と交換いたします.
e 上記，品質不良につきましては現品到着後，2 週間以内にご連絡ください. 2 週間を過ぎた場合は良品としてお受取りいただいたものとみなします.
r カラムの寿命については，保証の対象外といたします.
t 商品の仕様は，改良のため予告なく変更することがあります.

15. おわりに

本取扱説明書の内容に関して，不明な点あるいはご質問等がありましたら巻末の連絡先にご連絡ください.

以下の名称は東ソー株式会社の登録商標です.

HLC, TSK-GEL, TSKgel, TSKgel SuperMultipore,
BioAssist, Enantio, PStQuick,
エンバイロパック/Enviropak, トヨパール/TOYOPEARL, ToyoScreen,
TOYOPEARL GigaCap, トヨパールメガキャップ/TOYOPEARL MegaCap,
トヨパールパック/TOYOPEARLPAK, TOYOPAK

東ソー株式会社　バイオサイエンス事業部

東京本社	営業部	☎(03) 5427-5180	〒105-8623	東京都港区芝3-8-2
大阪支店	バイオサイエンスG	☎(06) 6209-1948	〒541-0043	大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店	バイオサイエンスG	☎(052) 211-5730	〒460-0003	名古屋市中区錦1-17-13
カスタマーサポートセンター		☎(0120) 17-1200	〒252-1123	神奈川県綾瀬市早川2743-1

Printed in Japan